تجزیه بیولوژیکی نفتالن با استفاده از باکتریهای جدا شده از آب دریاي خزر

زهرا یعقوب زاده[1]*، رضا صفري[2]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژي، بخش بیوتکنولوژي، پژوهشکده اکولوژي آبزیان دریاي خزر، ساري
۲- کارشناس ارشد میکروبیولوژي، بخش بیوتکنولوژي، پژوهشکده اکولوژي آبزیان دریاي خزر، ساري

چکیده

باکتریهای تجزیه کننده نفتالن از نمونه‌های آب دریای خزر (بنادر نوشهر و امیرآباد) در محیط کشت پایه حاوی املاح معدنی، نفتالن و عناصر کمیاب غنی‌سازی شده و محیط آگاردار جداسازی گردید. برای شناسایی افتراقی گونه‌های جدا شده از آزمونهای بیوشیمیایی استفاده گردید. انکوباسیون در دمای ۳۰°C و دوره‌های زمانی ۷۲-۲۴ ساعت صورت گرفت. پس از جداسازی باکتریها، جنسهای باسیلوس (*Bacillus* sp.)، سودوموناس (*Pseudomonas* sp.) و ویبریو (*Vibrio* sp.) به عنوان گونه‌های شاخص برای ارزیابی تجزیه نفتالن در سیستم Batch بررسی شدند. دو غلظت مورد استفاده نفتالن ۳۰ و ۴۰mM، دمای ۲۵ºC، مقدار مورد استفاده باکتریهای شاخص 10^6 و زمان مورد نیاز نیز صفر تا ۳۱۲ ساعت انتخاب شد. نتایج نشان داد که غلظت ۳۰ و ۴۰mM نفتالن در حضور جنس باسیلوس (*Bacillus* sp.) پس از ۳۱۲ ساعت به‌ترتیب به ۹/۴۵ و ۳/۴۲mM رسیده و در حدود ۶۸/۵٪ و۹۱/۴۲٪ کاهش داشت. غلظت ۳۰ و ۴۰mM نفتالن در حضورجنس سودوموناس (*Pseudomonas*) پس از ۳۱۲ ساعت به ۷/۵۶ و ۹/۴۵mM رسیده و در حدود ۷۴/۸٪ و ۷۶/۳۷٪ کاهش داشت. غلظت ۳۰ و۴۰mM نفتالن در حضور جنس ویبریو (*Vibrio* sp.) پس از ۳۱۲ ساعت به ۱۰/۵۴ و ۱۰/۳۹mM رسیده و در حدود ۶۴/۸۶٪ و ۷۴/۲۰٪ همراه با کاهش بود. بین باکتریهای آزمایش شده، جنس باسیلوس از قدرت تجزیه کنندگی بیشتری برخوردار بوده است.

کلید واژگان: باکتریهای تجزیه کننده، دریای خزر، نفتالن.

۱- مقدمه

دریای خزر به عنوان بزرگترین دریاچه جهان، علاوه بر داشتن ماهیان با ارزش اقتصادی از جمله ماهیان خاویاری، اکوسیستم منحصر بفردی دارد. استخراج روز افزون نفت، تردد کشتیهای باری تجاری و نفتکش میزان آلودگی را در کشورهای حاشیه شمالی، غربی و شرقی افزایش داده است.

به طور کلی ترکیبات نفتی به چهارگروه آسفالتینها هتروسیکلیکها، آلیفاتیک و آروماتیک تقسیم‌بندی می‌شوند [۱]. ترکیبات حلقوی آروماتیک (PAHs)[1] در ساختمان شیمیایی خود حلقه‌های بنزنی دارند و ترکیباتی فوق‌العاده پایدار، سمی و سرطانزا می‌باشند. پساب کارخانجات مجاور رودخانه‌های منتهی به دریای خزر (صنایع چوب و کاغذ، کارخانه چرم‌سازی، کارخانه فیبر و ...) حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات آروماتیک از قبیل فنل و مشتقات فنلی، بنزن و

* نویسندهٔ مسؤول مقاله: تلفن: ۰۹۱۱۲۵۵۰۴۶۷، Email: Za_yaghoub@yahoo

1. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

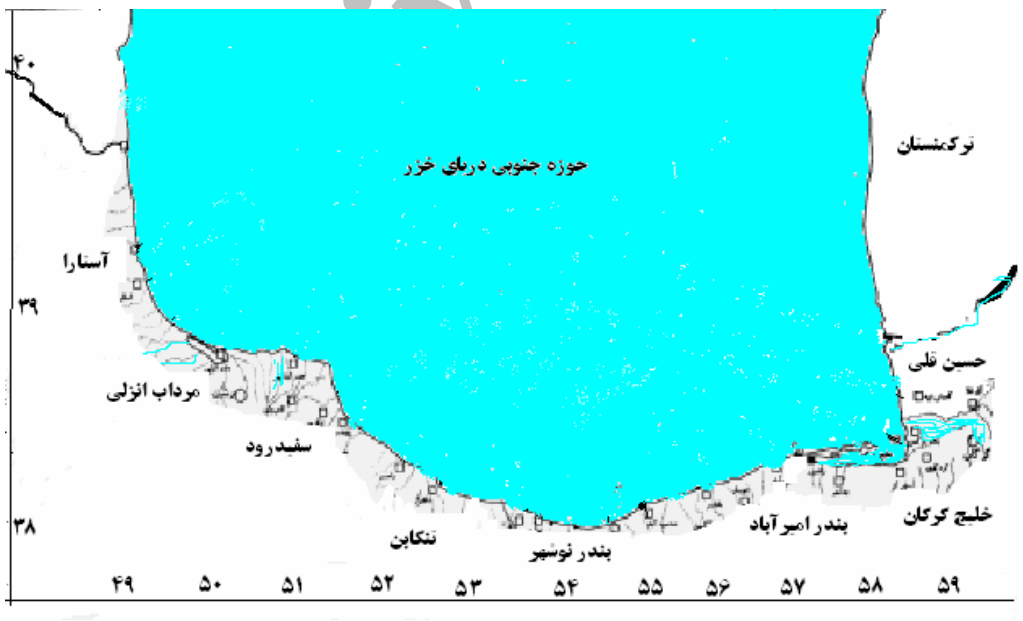
Archive of SID
www.SID.ir

تولوئن می‌باشند. این ترکیبات به راحتی وارد دریا می‌شوند و نواحی ساحلی را آلوده می‌کنند[۲]. تحقیقات انجام شده در ارتباط با وجود ترکیبات آروماتیک در آب حوزه جنوبی دریای خزر نشان دهنده وجود ترکیبات آروماتیک نظیر نفتالن، فلورن، فنانترن، آنتراسن، فلورانتن و... بین ۰/۰۰۴ تا ۲/۸۲mg/L است و غلظت آنها در اندامهای مختلف ماهیان خاویاری از جمله کلیه، آبشش، و کبد بین ۰/۶۳ تا ۱/۳۴ µg/g وزن خشک می‌باشد [۲]. نفتالن از ترکیبات آروماتیک دو حلقه‌ای است و غلظت آن در آب و بافت ماهیان شکارچی حوزه جنوبی دریای خزر بین ۰/۶۲۸mg/L – ۰/۰۰۸ و ۰/۱–۲µg/g وزن خشک است[۳]. هر چند که ترکیبات آروماتیک، حلقه بنزنی در ساختمان شیمیایی خود دارند اما میکروارگانیسمهای مختلف از جمله باکتریها قادر به تجزیه این ترکیبات بوده، آن را به ترکیبات حد واسط تبدیل می‌کنند و برخی از میکروارگانیسمها نیز قادر به تجزیه کامل نفتالن و تبدیل آن به آب و Co_2 می‌باشند.

هدف از انجام این تحقیق، تجزیه بیولوژیکی نفتالن با استفاده از باکتریهای موجود در بنادر نوشهر و امیرآباد در حوزه جنوبی دریای خزر است تا بتوان از آنها به عنوان سوشهای میکروبی شاخص در تجزیه بیولوژیک نفتالن استفاده کرد.

۱-۱- منطقه نمونه‌برداری

ایستگاههای مورد بررسی در دو منطقه از سواحل جنوب شرقی دریای خزر بندر نوشهر (اسکله نفتی دلفین، موج شکن غربی، اسکله ۳ غربی، اسکله نیروی دریایی، اسکله ۱ شرقی) در غرب و بندر امیرآباد (از مناطق مختلف اطراف آن) در شرق استان مازندران است (شکل ۱). این بنادر براثر بارگیری نفت و تردد کشتیهای حمل نفت و فرآورده‌های نفتی دارای پتانسیل افزایش مواد نفتی از جمله نفتالن می‌باشند. بنابراین ضروری است تا نسبت به کاهش بار آلودگی آن اقدام کرد. یکی از این راهها، تجزیه بیولوژیک آلاینده‌های مذکور می‌باشد.



شکل۱ ایستگاههای نمونه‌برداری بنادر امیرآباد و نوشهر در استان مازندران

Archive of SID
www.SID.ir

۲- مواد و روش‌کار

در این تحقیق دو منطقه امیرآباد و نوشهر از نظر وجود باکتریهای تجزیه کننده نفتالن ارزیابی و در مجموع ۱۶ نمونه از آب مورد آزمایش برداشت شد. نمونه‌برداری با استفاده از شیشه‌های درب سمباده‌ای استریل از عمق ۱۰cmانجام گرفت و سعی شد بیشتر از مناطقی که آلوده به ترکیبات نفتی بودند به دلیل وجود بیشتر باکتریهای تجزیه کننده نفتالن نمونه‌برداری شود. نمونه‌ها بعد از ۸ ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از صاف کردن روی صافی میلی پور ۰/۴۵ میکرونی، رسوب باقیمانده به محیط پایه معدنی حاوی املاح معدنی، نفتالن و عناصر کمیاب انتقال داده شد[۵]. به علت انحلال بسیار پایین نفتالن در آب، ابتدا نفتالن در ۲-۳cc از N.N- دی متیل فرمآمید حل سپس به محیط کشت پایه اضافه شد[۵]. ترکیبات محیط کشت پایه شامل عصاره مخمر (۱g)، NH_4Cl (۱g)، $MgSO_4$ (۰/۱g)، $CaCl_2$ (۰/۰۴g)، KH_2PO_4 (۰/۱g)، Na_2HPO_4 (۰/۲g) بود که به آن عناصر کمیاب اضافه شد. عناصر کمیاب مورد استفاده شامل $MnSo_4 - VH_2O$ (۳/۳mg)، $CuSO_4 - 5H_2O$ (۶/۲ mg)، $ZnSO_4 - VH_2O$ (۷/۶mg)، $Na_2MOO_4 - 2H_2O$ (۱۱/۷mg)، $FeSO_4 - VH_2O$ (۶۴/۱۶mg) بود که این ترکیبات در ۰/۰۵ HCL۱۰۰۰ml نرمال حل شدند[۵، ۶].

محیط حاوی نمونه به مدت ۵ روز در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۵ºC قرار داده شد. پس از مشاهده کدورت، ابتدا رقتهای متوالی (10^{-6}-10^{-2}) از محیط اولیه تهیه شد و در محیط کشت اختصاصی تریپتوکیس سویا آگار تهیه شده با آب دریا، کشت داده شد. پس از گرمخانه گذاری، کلنیهای رشد یافته از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی، واکنش گرم و آزمونهای اولیه مثل کاتالاز، اکسیداز و بیوشیمیایی نظیر تخمیر قندها، رشد در حضور نمک و دماهای مختلف و استفاده از منابع مختلف کربنی آزمایش شدند. در نهایت با انجام آزمایشهای مختلف سه باکتری شاخص شامل جنسهای باسیلوس، سودوموناس و ویبریو به منظور تجزیه نفتالن در سیستم Batch انتخاب شدند. به منظور استفاده از باکتریهای مورد نظر از غلظت ۱۰۶، دو غلظت ۳۰ و۴۰mM از نفتالن و دمای ۲۵ºC و زمانهای صفر تا ۳۱۲ استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات نفتالن از دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شد، ابتدا یک محلول به عنوان شاهد و استاندارد از آب مقطر و نفتالن تهیه گردید. از مدل دستگاه Himadzu A۱۴ و دتکتور (ECD)[1]، هلیوم به عنوان گاز حامل، گاز ازن به عنوان make up و ستون کاپیلاری ۰/۵۳ × CB۱۰ ۳۰m mm ID استفاده گردید. دمای اولیه آون ۱۸۰ و دمای نهایی آن ۲۵۰ºC، مقدار تزریق در دستگاه ۱µL و میزان جریان flow rate دستگاه نیز ۵۰mL در دقیقه بود. نمونه‌ها پس از ثابت شدن با دی‌کلرومتان و جدا شدن فاز آلی، به دستگاه تزریق شدند. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده گردید. برای تحلیل آماری از نرم افزار SPSS و آزمون Anova استفاده شد و شاخصهای مختلف آماری از جمله انحراف معیار، میانگین، ماکزیمم، مینیمم و ارزش P مشخص شدند.

۳- نتایج

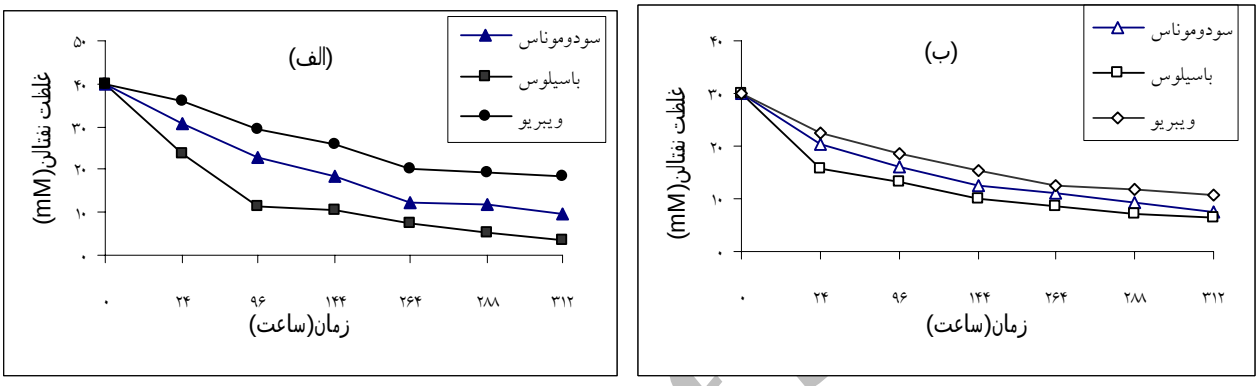
نتایج آزمایشها نشان داد که باکتریهای سراشیا *(Serratia* sp.*)*، فلاوباکتریوم *(Flavobacterium* sp.*)*، جنس سودوموناس *(Pseudomonas sp)* جنس باسیلوس *(Bacillus* sp.*)*، موراکسلا *(Moraxella* sp.*)*، ویبریو *(Vibrio* sp.*)*، میکروکوکوس *(Micrococcus* sp.*)* و پدیوکوکوس *(Pediococcus* sp.*)* توانایی استفاده از نفتالن به عنوان تنها منبع کربن را دارا می‌باشند [۷].

به طور کلی میزان جداسازی باکتریهای گرم منفی نسبت به گرم مثبت بیشتر بود و در بین باکتریهای گرم منفی نیز باکتریهای اکسیداز مثبت غیرتخمیری (سودوموناسها) نسبت به سایرین بیشتر بودند و نتایج مذکور نیز معنادار بود ($p<0/05$) (تعداد نمونه‌های مثبت از نظر باکتریهای گرم منفی نسبت به تعداد نمونه‌های مثبت باکتریهای گرم مثبت معنادار بوده است). نمودار ۱ تغییرات نفتالن ۳۰ و ۴۰mM/L را در حضور باکتریهای جنس سودوموناس، جنس باسیلوس و جنس ویبریو در مدت ۳۱۲ ساعت نشان می‌دهد. میزان حذف نفتالین در حضور جنس سودوموناس به ترتیب ۷۴/۸٪ و ۷۶/۳۷٪ می‌باشد، میزان حذف نفتالین در حضور جنس باسیلوس به ترتیب ۶۸/۵٪ و ۹۱/۴۲٪ است و میزان حذف نفتالین در حضور جنس ویبریو به ترتیب ۶۴/۸۶٪ و ۷۴/۲۰٪

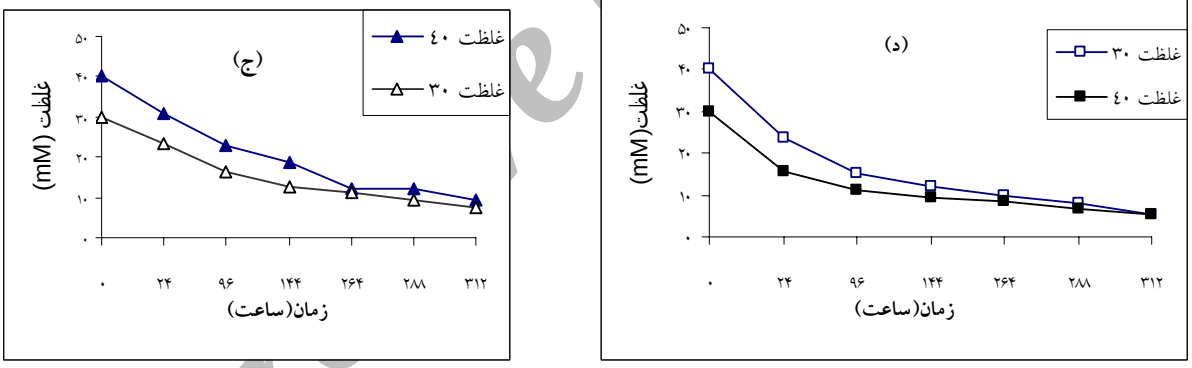
1. Electron Capture Detector

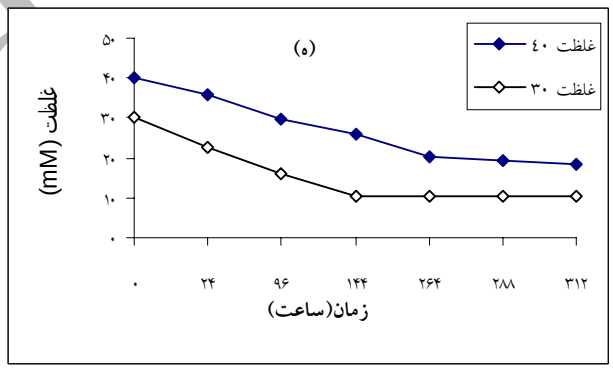
Archive of SID
www.SID.ir

مـی‌باشـد. نمـودار ۲ مقایـسه مـصرف نفتـالن در غلظـت ۳۰ و۴۰mM/L را در حضور جنس سودوموناس، جنس باسیلوس و جنس ویبریو نشان می‌دهد. نمودار ۳ لگاریتم تعداد باکتریهـا بـر حـسب cfu/ml را در حـضور نفتـالن ۳۰ و ۴۰mM/L را نـشان می‌دهد که مطابق این نمودارها بیشترین رشد را جنس باسیلوس و کمترین رشد را جنس ویبریو داشته اسـت. نمـودار ۴ مقایـسه لگاریتم تعداد جنس سـودوموناس، جـنس باسـیلوس و جـنس ویبریو برحـسب cfu/ml در حـضور نفتـالن ۳۰ و ۴۰mM/L را نشان می‌دهد.



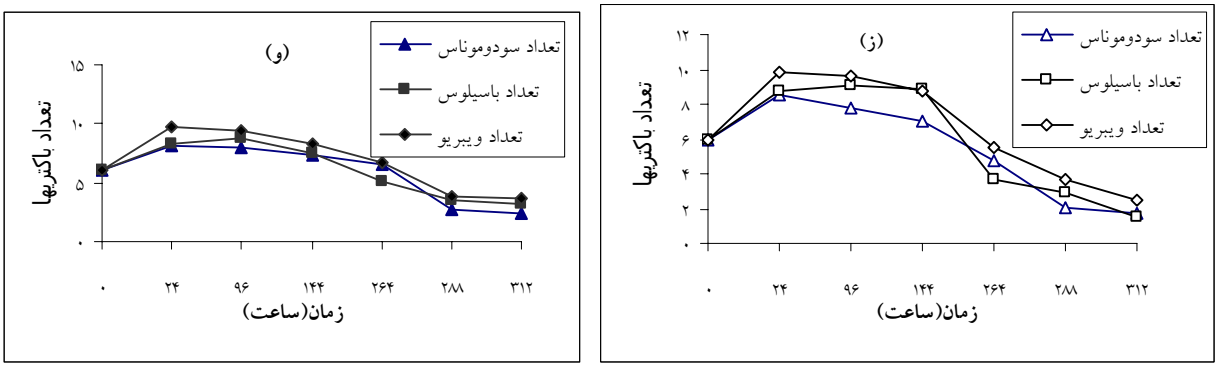
نمودار۱ تغییرات نفتالن در حضور سودوموناس، باسیلوس و ویبریو (الف) غلظت ۴۰mM (ب) غلظت ۳۰mM



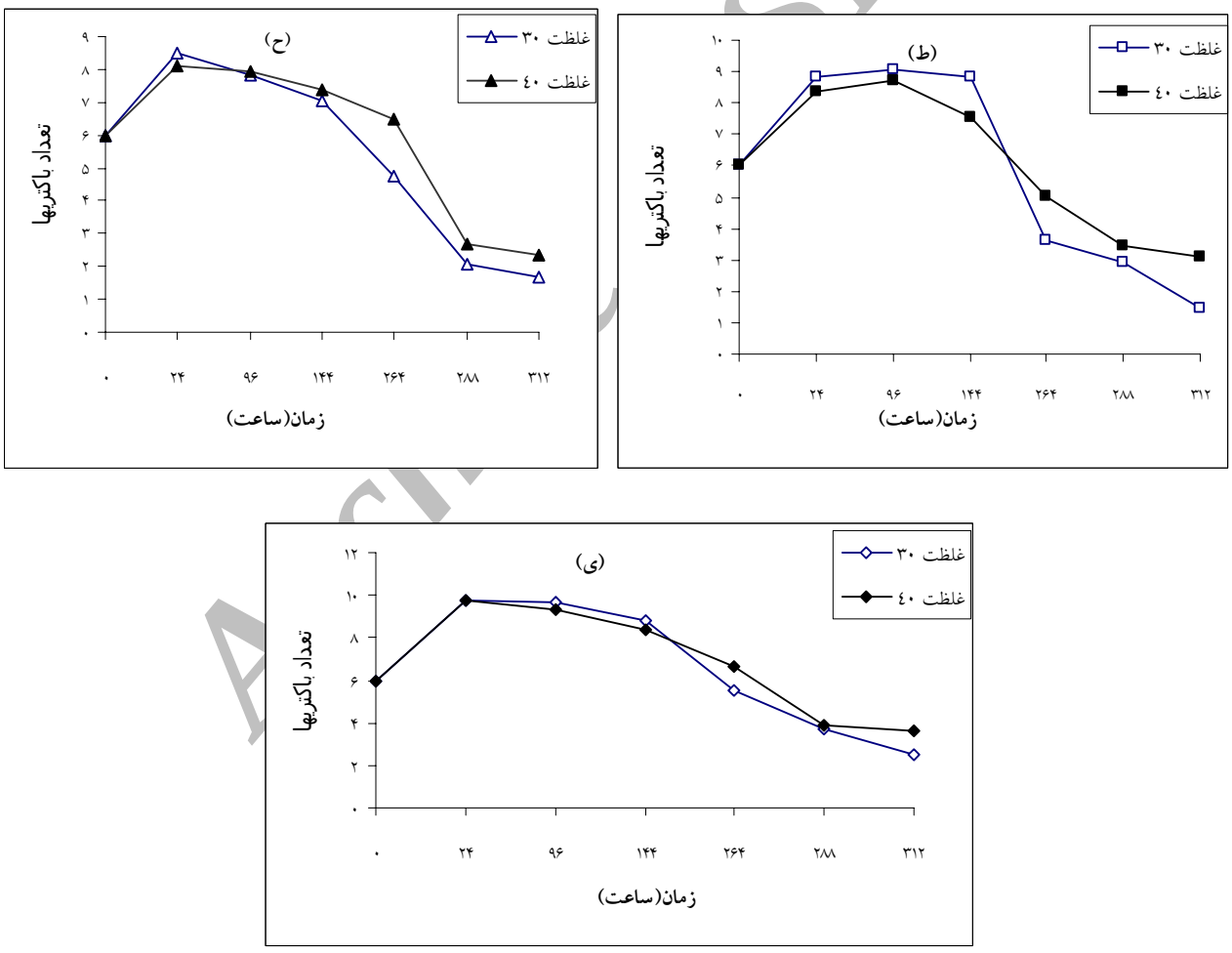


نمودار۲ مقایسه تغییرات نفتالن ۳۰ و ۴۰mM در حضور (ج) سودوموناس، (د) باسیلوس و (ه) ویبریو

www.SID.ir



نمودار۳ لگاریتم تعداد باکتریها برحسب (cfu/ml) در حضور نفتالن (و) ۴۰mM (ز) ۳۰mM



نمودار۴ مقایسه لگاریتم تعداد باکتریها برحسب (cfu/ml) در حضور نفتالن ۳۰ و ۴۰mM (ح) سودوموناس (ط) باسیلوس (ی) ویبریو

www.SID.ir

۴- بحث

آلودگی نفتی در دریای خزر در حاشیه کشورهای آسیای میانه بسیار بالاست و مقادیر زیادی از ترکیبات نفتی در این مناطق وجود دارند. به عنوان مثال در منطقه باکو سالیانه میلیونها مترمکعب از ترکیبات نفتی وارد دریای خزر می‌شود، به طوری که خلیج باکو در آذربایجان یکی از آلوده‌ترین مکانهای دریای خزر است و کف آن تا ضخامت ۱۰–۱۲m آلوده به مواد نفتی می‌باشد[۴]. از این رو خلیج باکو به دلیل شدت آلودگی، به منطقه مرده‌ای تبدیل شده است که هیچ موجودی در آن زیست نمی‌کند[۴]. تحقیقات مختلفی درخصوص باکتریهای تجزیه‌کننده ترکیبات آروماتیک و نفتالن انجام شده است. باکتریهایی نظیر ویبریو پاراهمولیتیکوس *(Vibrio parahaemolyticus)*، ویبریو فلوویالیس *(Vibrio fluvialis)* و همچنین جنسهای مختلف خانواده آنتروباکتریاسه توانایی تجزیه ترکیبات آروماتیک را دارند. این باکتریها از رسوب مصب و آب جدا شده‌اند[۷]. جنس موراکسلا *(Moraxella* sp.*)* جدا شده از رسوبات دریایی توانایی تجزیه ترکیبات آروماتیک را دارد. گونه‌های مختلف مایکوباکتریوم *(Mycobacterium* sp.*)* جدا شده از سواحل قادر به اکسیدکردن دامنه وسیعی از ترکیبات آروماتیک از نفتالن تا پیرن بودند [۸]. تحقیقات نشان داده که برخی از باکتریها نظیر ریزوبیوم *(Rhizobium* sp.*)*، جنس برادی ریزوبیوم *(Bradyrhizobium* sp.*)*، جنس سودوموناس *(Pseudomonas)*، جنس آزوسپیریلیوم *(Azospirillum* sp.*)* و سودوموناس پوتیدا سویه PRS۲۰۰۰ گرایش خاصی به ترکیبات آروماتیک دارند و از آنها به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند[۹]. محققان چهار گروه از باکتریهای گرم منفی به نامهای آگروباکتریوم *(Agrobacterium)*، سودوموناسها *(Pseudomonas)*، بورگهولدریا *(Burkholderia)*، اسفنگوموناس *(Sphingomonas)* و یک جنس از باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس *(B. cereus)* را که قادر به تجزیه ترکیبات آروماتیک بودند، جدا کردند[۱۰]. همچنین محققان سویه‌های مختلفی از باکتریها را که توانایی رشد روی انواع ترکیبات آروماتیک شامل کریزن، بنزوآنتراسن و بنزوپیرن را دارند، جدا کردند. این باکتریها شامل آکروباکتریوم تومه فاسینس *(Agrobacterium tumefaciens strain G2)* ، و سودوموناس ساکاروفیلا *(Pseudomonas saccharophila strains G3, P15)*، سودوموناس سپاسیا *(Pseudomonas cepacia strain C5)* و سودوموناس پاسی موبیلیس *(P. paucimobilis strain VT1)* می‌باشند[۱۱]. باکتری جدید دریایی بنام نفتونوموناس نفتوورانس *(Neptunomonas naphthovorans)* قادر به تجزیه ترکیبات آروماتیک حلقوی است[۱۲]. مقادیر زیادی از میکروارگانیسمهای تجزیه کننده نفتالین شامل آلکالیژنز دنیتریفیکان *(Alcaligenes denitrificans)* ، مایکوباکتریوم *(Mycobacterium* sp.*)*، سودوموناس پوتیدا *(Pseudomonas putida)*، سودوموناس فلورسنس *(P. fluorescens)* ، سودوموناس پاسی موبیلیس *(P.paucimobilis)* سودوموناس وزی کولاریس *(P.vesicularis)*، سودوموناس سپاسیا *(P.cepacia)*، سودوموناس تستوسترونی *(P.testosteroni)*، ردوکوکوس *(Rhodococcus* sp.*)*، کورینه باکتریوم ونال *(Corynebacterium venale)*، باسیلوس سرئوس *(Bacillus cereus)*، موراگسلا *(Moraxella* sp.*)* استرپتومایسز *(Streptomyces* sp.*)*، ویبریو *(Vibrio* sp.*)*، و سیکلوتر و فیکوس *(Cyclotrophicus* sp.*)* از محیطهای مختلف جدا شده‌اند[۸]. باکتریهایی مثل آکروموباکتریوم تومه فاسینز *(Agrobacterium tumefaciens)*، سودوموناس ساکاروفیلا *(Pseudomonas saccharophila)*، جنس سودوموناس *(Pseudomonas* sp.*)*، سودوموناس استوتزری *(P. stutzeri)* و باسیلوس سرئوس *(Bacillus cereus)* در حضور نفتالن قادر به رشد می‌باشند[۱۰] . باکتری هوازی گرمادوست *(Bacillus thermoleovorans)* قادر به تجزیه نفتالن در دمای ۶۰°C است و از آن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی در محیط کشت آزمایشگاهی استفاده می‌کند. این باکتری در ابتدای رشد دارای فاز سکون طولانی است (حدود ۲۵ ساعت)، پس از آن افزایش رشد باکتری با کاهش نفتالن همراه می‌باشد. پس از ۵ ساعت، سرعت رشد باکتری کاهش پیدا می‌کند و به حد ثابت می‌رسد. این باکتری طی ۵ ساعت غلظت نفتالن را تا ۰/۴°C کاهش می‌دهد[۶] که

Archive of SID
www.SID.ir

با جداسازی باسیلوس در تحقیق حاضر مطابقت دارد. راسته سودوموناداله را از محیطهای دریایی جدا کرده‌اند که نفتالن را به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار می‌دهند و همچنین فنانترن و آنتراسن را اکسید می‌کنند. سودوموناس پوتیدا *(Pseudomonas putida)* تجزیه کننده نفتالن، گونهٔ متداولی است که از خاک و همچنین رسوبات دریا جدا می‌شود. دو گونه دیگر از سودوموناس بنام سودوموناس استوتزری *(Pseudomonas stutzri)* و سودوموناس تستوسترونی *(Pseudomonas testosteroni)* که توانایی تجزیه نفتالن را دارند از رسوب سواحل نیز جدا شده‌اند. بنابراین سودوموناداهایی که به کرات از نمونه‌های خاک جدا می‌شوند، به طور مکرر از محیطهای دریایی نیز جدا می‌شوند [۸]. اخیراً گونه‌ای از این باکتری به نام *P. paucimobilis* جدا شده که قادر به تجزیه ترکیبات آروماتیک تا پنج حلقه بنزنی می‌باشد. سودوموناس از ترکیبات سه و چهار حلقه‌ای به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده اما پنج حلقه‌ای را فقط اکسید می‌کند و ترکیب اکسید شده در اختیار سایر باکتریها قرار می‌گیرد و در نهایت به ساده‌ترین شکل آن یعنی دی‌اکسید کربن و آب تبدیل می‌شود[۸]. دو باکتری متحرک *Pseudomonas NCIB* و *Pseudomonas* ۸۱۶-۴ و سودوموناس پوتیدا G۷ قادر به تجزیه نفتالن می‌باشند که نتایج حاصل با نتایج این تحقیق در ارتباط با جداسازی باکتریهایی نظیر جنس سودوموناس مطابقت دارد[۱۴]. در تمام نمونه‌های مورد بررسی باکتریها در فاز رشد لگاریتمی به محیط پایه معدنی حاوی نفتالن اضافه شدند. باکتریها از نفتالن به عنوان تنها منبع کربن خود استفاده کرده، روند صعودی به خود گرفتند و پس از افزایش رشد و قرار گرفتن در فاز رشد ثابت، روند نزولی پیدا کردند که این تغییر با کاهش غلظت نفتالن همراه بود. این امر نشان دهنده آن است که منبع کربن مورد نیاز باکتری، در حال کاهش بود و بالطبع شرایط رشد نیز مهیا نبود. هنگام استفاده از باسیلوس در حضور غلظت ۳۰ و ۴۰mM نفتالن باکتری پس از ۲۴ ساعت، افزایش رشد داشت و با افزایش زمان انکوباسیون روند رشد باکتری کاهش پیدا کرد. به عبارت دیگر می‌توان گفت که اگر باکتری در هنگام رشد لگاریتمی اضافه شود در ۲۴ ساعت اول بیشترین فعالیت تجزیه کنندگی خود را نشان می‌دهد و غلظت نفتالن را به زیر حد استاندارد خود کاهش می‌دهد. میانگین کاهش نفتالن با غلظت ۳۰ و ۴۰mM در حضور باسیلوس به ترتیب ۶۸/۵٪ و ۹۱/۴۲٪ بود. میانگین کاهش نفتالن با غلظت ۳۰ و ۴۰ در حضور سودوموناس به ترتیب ۷۴/۸٪ و ۷۶/۳۷٪ بود و روند تغییرات نفتالن با غلظتهای ذکر شده در حضور ویبریو به ترتیب ۶۴/۸۶٪ و ۷۴/۰۲٪ کاهش داشت.

۵- سپاسگزاری

لازم است از تمام مسؤولان و همکاران محترم پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر که در تمام مراحل اجرای این پروژه با ما همکاری داشتند، نهایت قدردانی را داشته باشیم.

۶- منابع

[۱] موریسون و بوید؛ شیمی آلی؛ ناشر شرکت نشر مشهد و نشر فرید؛ ۱۳۶۹؛ ۷۶۹ص.

[۲] نصراله‌زاده ساروی ح.؛ بررسی میزان آلودگیهای نفتی و فلزات سنگین در حوزه جنوبی دریای مازندران؛ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر؛ ۱۳۷۶؛ ۵۰ ص.

[۳] رضوانی گیل کلایی س.؛ بررسی آثار هیستوپاتولوژیک ناشی از برخی آلاینده‌های زیست‌محیطی دریای خزر روی ماهیان استخوانی شکارچی"آزاد وسوف دریای خزر"؛ ۱۳۸۳؛ ۶۳ ص.

[۴] ستوده نیا ف.؛ «بررسی بار آلودگی فلزات سنگین(Cd, Pb, Cu , Zn) در بافت عضله ماهی کفال در محدوده اسکله فریدون کنار»؛ *پایان‌نامه کارشناسی ارشد*؛ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال؛ ۱۳۸۲؛ ۱۰۰ص.

Archive of SID
www.SID.ir

[5] Abou seoud M., Maachi R.; Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped pseudomonas sp., z Naturforsch; 2003; 58c; 726-731.

[6] Annweiler E., Richnow H. H., Antranikian G., Hebenbrock S., Garms C., Franke S., Francke W., Michaelis W.; «Naphthalene degradation and Incorporation of Naphthalene - Derived Carbon into Biomass by the Thermophile Bacillus thermoleovorans»; *Applied and Environmental Microbiology*; 2000; 66(2): 518-523.

[7] Macfaddin J. F.; Biochemical tests for identification ofmedical bacteria lippincott williams & wilkins; 2000.

[8] MacGillirray A.R., Shiaris M. P.; Microbial ecology of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation in coastal sediments; 1999; Chapter 6; 125-147.

[9] Pandey G., Gain R. K.; Minireviews bacterial chemotaxis toward environmental Pollu tants: Role in Bioremediation; Applid and environmental microbiology; Dec. 2002; pp. 5789-5795.

[10] Aitken M. D., Stringfellow W. T., Nagel R. D., Kazunga C., Chen S-H.; «Characteristics of phenanthrene-degrading bacteria isolated from soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons.can»; *j .Microbial*. 1998; Vol. 44; 743-752.

[11] Aitken M. D., Grimberg S. J., Nagel J., Nagel R. D., Stringfellow W. T.; Bacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and potential effects of surfactants on PAH bioavailability, university of North Carolina water resources research institute report no; 299. 1996.

[12] Hedlund B. P., James T. S.; Vibrio cyclotrophicus sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading marine bacterium. *Int.J. Sys. Evol. Microbiol*; 2001; 51: 61-66.

[13] Samanta S.K., Singh O. V., Jain R. K.; Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental poiiution and bioremediation. Trends in Biotechnology; June 2002; 20 (6).

[14] Grimm A. C., Harwood C. S.; Chemotaxis of pseudomonas sp .to the polycyclic aromatic hydrocarbon, naphthalene; Appl. Environ. Microbiol; 1997; 63: 4111- 4115.

Archive of SID

www.SID.ir